



TITLE:

# カキ甘渋性の分子制御メカニズム とその遺伝制御領域に関する研究( Abstract\_要旨)

AUTHOR(S):

西山, 総一郎

---

CITATION:

西山, 総一郎. カキ甘渋性の分子制御メカニズムとその遺伝制御領域に関する研究. 京都大学, 2018, 博士(農学)

ISSUE DATE:

2018-03-26

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21139>

RIGHT:

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 農 学 )	氏名	西 山 総 一 郎
論文題目	カキ甘渋性の分子制御メカニズムとその遺伝制御領域に関する研究		
(論文内容の要旨)			
<p>カキ (<i>Diospyros kaki</i> Thunb.) の大部分の品種は、防御物質であるプロアントシアニジン (PA) を果実発育期間中に継続して果実中に蓄積する。カキ果実のPAがもたらす強い渋味は消費者に甚だしく忌避されることから、PA蓄積の制御はカキの育種や栽培の重要な課題の一つである。カキ品種のうち、果実発育期間初期にPA蓄積を停止する完全甘ガキ (PCNA) 品種群は、安定的な甘ガキ生産に利用可能であり、広く栽培されている。これまでに、PCNAとそれ以外 (non-PCNA) は <i>ASTRINGENCY</i> 遺伝子座の対立遺伝子 (<i>AST</i> と <i>ast</i>) により制御されることが明らかとなっている。本研究は、カキの特徴的なPA蓄積制御機構の解明を目的として <i>ASTRINGENCY</i> 遺伝子座に着目し、ゲノムおよびトランスクリプトームの解析を行ったものである。</p> <p>第1章では、PCNAとnon-PCNAが分離しているカキ交雑後代幼果のトランスクリプトーム解析を行い、PA蓄積とその制御に関わる遺伝子発現を解析した。PA蓄積に関連して発現する遺伝子群にはフラボノイド関連の遺伝子に加えて光刺激を中心とする非生物学的ストレス関連の遺伝子が多く含まれており、これらの遺伝子が協調的に発現することが明らかとなった。続いて共発現ネットワーク解析を行ったところ、PA蓄積と正の相関を示すmoduleにおいて中心に位置する転写制御因子の候補は少数であり、これらの中にカキ果実のPA蓄積に機能することが示唆されている転写因子 (<i>DkMYB4</i> と <i>DkMYC1</i>) 遺伝子が含まれていた。これらの解析から、<i>AST</i> に生じた変異がもたらす発現変動は、比較的少数の転写因子によって制御されており、<i>DkMYB4</i> と <i>DkMYC1</i> がPA蓄積の差異に重要な役割を果たしている可能性が示された。</p> <p>第2章では、<i>ASTRINGENCY</i> 遺伝子座の順遺伝学的解析を行った。カキは大半が六倍体であり直接の遺伝解析が困難であることから、二倍体近縁種のマメガキ (<i>D. lotus</i> L.) とカキのゲノムシンテニーを利用した比較マッピング (shuttle mapping) を行った。まず甘渋性選抜用マーカー領域を起点としてマメガキBACライブラリーの染色体歩行を行い、<i>ASTRINGENCY</i> 遺伝子座およびその周辺領域に19クローン、約2.18 Mbからなるコンティグを構築した。続いて、得られたゲノム配列を用いて、<i>AST</i> と連鎖したマーカーをハプロタイプ特異的に作製した。このマーカーを利用して、カキ甘渋性分離後代296個体およびマメガキF<sub>1</sub> 333個体を用いたshuttle mappingを行い、<i>AST</i> の座乗領域をマメガキゲノムの約915 kbに相当する領域に特定した。</p> <p>次に、いくつかの六倍体カキの品種および交雑後代のショートリード全ゲノムシーケンスを取得し、第1章のトランスクリプトームデータと合わせて<i>AST</i> 候補の探索を試みた。マメガキゲノムとの相同領域中でnon-PCNAで顕著に発現が高い遺伝子は3個のみと非常に少数であったが、一方で、第1章で得られた制御因子の候補はこの領域に検出されなかった。<i>AST</i> 単離のためには、転写制御領域の解析と六倍体カキの <i>ASTRINGENCY</i> 遺伝子座領域をカバーするゲノムコンティグの構築が必要であることが示された。</p> <p>本研究の結果から、甘渋性を制御する遺伝子発現ネットワークの一端が明らかとなり、ごく少数の転写因子が甘渋性の決定に中心的な役割を果たすことが示唆された。また、<i>AST</i> の座乗領域を六倍体カキのゲノム上で特定することができた。本研究の成果は、今後のカキPA研究や<i>AST</i> 同定にむけた重要な基礎情報として活用できる。</p>			

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し  
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

甘渋性はカキ (*Diospyros kaki* Thunb.) の重要な育種形質の一つであり、日本の近代カキ育種では、優良な完全甘ガキ (PCNA) 品種の育成に主眼が置かれている。PCNA 品種は果実発育のごく初期にプロアントシアニジン (PA) の蓄積を停止することが知られており、PCNAとそれ以外 (non-PCNA) は *ASTRINGENCY* 遺伝子座の対立遺伝子 (*AST* と *ast*) によって決定されることが明らかにされている。しかしながら、カキの遺伝解析は、長い幼木相や高次倍数性が障害となり困難を極めるため、これまで *AST* の座乗位置や実体は明らかにされていない。本研究は、カキの特徴的な PA 蓄積を規定する *AST* の同定に必要な基礎情報を整備したものである。評価すべき点は以下のとおりである。

1. カキ甘渋性分離後代の果実トランスクリプトームデータを用いた発現変動解析およびクラスタリング分析により、*AST* の制御下で、フラボノイド関連遺伝子と光刺激を中心とする非生物学的ストレスに関連する遺伝子の発現が変動することを示した。さらに共発現ネットワーク解析の結果、*AST* がもたらすフラボノイド関連遺伝子の発現変動には、ごく少数の転写因子が重要な役割を果たしている可能性を示した。これら一連のトランスクリプトームの網羅的大量解析から、*AST* が果実に及ぼす生理的機能の全体像が明らかになった。

2. 六倍体カキと、その二倍体近縁種であるマメガキ (*D. lotus* L.) とのゲノムシンテニーを利用した比較マッピング (shuttle mapping) のアプローチにより、*AST* の座乗領域をカキゲノム上で特定した。カキの遺伝解析は従来、高次倍数性が一つの大きな障壁となってきたが、本研究におけるカキとマメガキのゲノムシンテニーを利用した研究は、今後、カキの遺伝学的研究のモデルケースとなる。さらに、本研究では *ASTRINGENCY* 遺伝子座に複数のハプロタイプ特異的マーカーを作出することにも成功しており、六倍体カキの *ASTRINGENCY* 遺伝子座をカバーするゲノムコンティグの構築にも展開可能な成果を得ている。

3. 全ゲノムシーケンスデータおよびトランスクリプトームデータを用いて候補遺伝子および甘渋性と関連のあるゲノム配列多型を同定し、さらにこれまでの研究で見出されたいくつかの制御因子候補がカキ *ASTRINGENCY* 遺伝子座のマメガキ相同領域には、座乗しないことを明らかにした。

以上のように、本研究は、六倍体カキにおいて甘渋性決定遺伝子 *AST* の座乗領域を特定し、将来の *AST* 同定やその機能解明、またカキ PA 蓄積制御機構の全容解明およびその制御にむけて重要な基礎的知見を与えたものであり、果樹園芸学、育種学、植物遺伝学、植物生理学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成 30 年 1 月 18 日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士 (農学) の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することと支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から 3 ヶ月以内)